

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2012 년 10 월 4 일 (04.10.2012)



(10) 국제공개번호
WO 2012/134170 A2

- (51) 국제특허분류:
A61K 36/74 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/002279
- (22) 국제출원일: 2012 년 3 월 28 일 (28.03.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0027370 2011 년 3 월 28 일 (28.03.2011) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **주식회사 한국전통의학연구소 (KOREA Bio Medical Science Institute)** [KR/KR]; 전라북도 익산시 익산대로 501, 원광대학교 한의학전문대학원 303 호, 570-479 Jeollabuk-do (KR).
- (72) 발명자: **결**
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **황성연 (HWANG, Sung Yeoun)** [KR/KR]; 인천시 남동구 논현동 소재논현도시개발지구 10 블럭 에코메트로 한화꿈에그린아파트 1001-601, 405-300 Incheon-si (KR). **정경채 (JEONG, Kyung Chae)** [KR/KR]; 경기도 고양시 일산동구 풍동 숲속마을 2 단지 210-902, 410-782 Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: **박진호 (PARK, Jin Ho)**; 서울시 강남구 대치동 891-48 돌체타워 3 층, 135-840 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(54) Title: COMPOSITION FOR LUNG CANCER TREATMENT AND COMPOSITION FOR COSMETICS CONTAINING RUBIAE RADIX EXTRACT

(54) 발명의 명칭 : 천초근 추출물을 포함하는 폐암 치료용 조성물 및 화장품 조성물

(57) Abstract: The present invention relates to a novel use of a rubiae radix extract, and more specifically, to a composition for lung cancer treatment and a composition for cosmetics containing, as an active ingredient, a rubiae radix extract having excellent preventive and treatment effects on lung cancer. The rubiae radix extract, according to the present invention, suppresses growth of and induces apoptosis of lung cancer cells, and therefore can be used effectively for lung cancer treatment and prevention.

(57) 요약서: 본 발명은 천초근 추출물의 신규한 용도에 관한 것으로, 폐암에 대해 탁월한 예방 또는 치료 효능을 나타내는 천초근 추출물을 유효성분으로 함유하는 치료용 조성물 및 화장품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 천초근 추출물은 폐암 세포의 성장을 억제하고 세포사멸을 유도하는 효과가 있어 폐암 치료 및 예방에 효과적으로 사용할 수 있다.



WO 2012/134170 A2

명세서

발명의 명칭: 천초근 추출물을 포함하는 폐암 치료용 조성물 및 화장료 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 천초근 추출물의 신규한 용도에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 폐암에 대해 탁월한 예방 또는 치료 효능을 나타내는 천초근 추출물을 유효성분으로 함유하는 치료용 조성물 및 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 현대인의 주요 질환 중에서, 암의 치료방법과 진단방법에 관한 연구는 발병빈도가 높은 폐암, 간암, 위암 등을 중심으로 진행되고 있다. 폐암이란 폐에 생긴 악성 종양을 말하며, 크게 암세포가 기관지, 세기관지, 폐포 등 폐를 구성하는 조직에서 처음 발생한 원발성 폐암과 암세포가 다른 기관에서 생겨나 혈관이나 림프관을 타고 폐로 이동해 증식하는 전이성 폐암으로 나눌 수 있다.
- [3] 2009년에 발표된 한국중앙암등록본부 자료에 의하면 2007년에 우리나라에서는 연 평균 161,920건의 암이 발생되었는데, 그 중 폐암은 남녀를 합쳐서 연 평균 17,846건으로 전체 암 발생의 11.0%로 4위를 차지하였다. 인구 10만명당 조발생률은 36.3건이다. 남녀의 성비는 3.51:1로 남자에게서 더 많이 발생하였다. 발생건수는 남자가 연 평균 12,841건으로 남성의 암 중에서 2위를 차지하였고, 여자는 연 평균 5,005건으로 여성의 암 중에서 5위를 차지하였다. 남녀를 합쳐서 본 연령대별로는 70대가 34.1%로 가장 많고, 60대가 31.3%, 50대가 14.8%의 순이다(보건복지가족부 중앙암등록본부 2009년 12월 21일 발표 자료).
- [4] 폐암은 현미경적으로 암세포의 크기와 형태에 따라 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer: NSCLC)과 소세포 폐암(small cell lung cancer: SCLC)으로 구분된다. 이렇게 비소세포 폐암과 소세포 폐암을 구분하는 것은 임상적 경과와 치료가 다르기 때문인데, 전체 폐암의 80~85%를 차지하는 비소세포 폐암은 조기에 진단할 경우 수술적 요법으로 치료할 수 있으나, 조기 발견이 어려운 폐암의 특성상 늦게 발견되어 치료가 어려운 경우가 많다. 비소세포 폐암은 3종류의 서브 타입으로 구성된다: 40% 선암(adenocarcinoma), 40% 편평상피세포암(squamous cell carcinoma) 및 20% 대세포암(large cell carcinoma). TMN 병기 구분법(staging system)이 폐암의 관리에 널리 받아들여지고 있다. 일차 종양은 종양 크기, 부위 및 국부적 병발(local involvement)에 따라 4개의 T 카테고리(T1-T4)로 구분된다. 림프 절 확산(spread)은 폐 내의 기관지/폐(bronchio/pulmonary) 내로 전달(N1), 상기 일차 종양과 같은 측면 상의 종격동 확산(medistinal spread)(N2) 및 상기 일차 폐 종양의 맞은 편으로 종격동 확산 또는 상부클라비움 병발(supraclavicular involvement)(N3)로 구분된다. 원격

또는 전이 확산(metastatic spread)은 없거나 있다(M0 또는 M1). 일반적으로 전이가 이루어지지 않은 폐암은 외과적 수술을 통하여 제거하는 방법으로 치료를 한다. 그러나, 폐암 제거 수술 후의 재발율은 20 내지 50%로 높다(Cancer: Principles & Practice of Oncology, 56th. ed. In: Devita DV, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001).

- [5] 특히 비소세포성 폐암은 치료 후 재발률이 높고, 높은 발병률에 비하여 기존의 항암제를 이용한 화학적 치료에 대한 내성이 쉽게 발생하여 효과적인 치료가 어려운 것으로 알려져 있다. 상기 비소세포성 폐암의 경우, 최근의 암 치료법의 발달에도 불구하고 10년 생존률이 10% 이하로 매우 낮다. 따라서 이러한 비소세포성 폐암에 대한 치료제 개발이 매우 중요하다.

[6]

- [7] 천초근(*Rubiae Radix*)은 갈퀴꼭두서니(*Rubia cordifolia* L), 꼭두서니(*Rubia akane* Nakai) 또는 큰꼭두서니 (*Rubia chinensis* REGEL) 등으로 알려져 있는 꼭두서니과 (*Rubiaceae*)에 속하는 동속의 건초근 및 근경을 지칭하는 생약이다. 천초근은 그 형태가 괴상이고 줄기의 남은 부분이 있으며, 여러개 또는 수십개의 지근이 있다. 원추형으로 굽어 있으며 갈색 또는 적갈색이며 세로주름이 있다. 껍질은 쉽게 탈락하며 적황색의 목질부가 노출된다. 질은 단단하고 단면은 황적, 담적색이고 맛은 쓰다.

- [8] 엑기스 수준으로는 혈관확장 작용, 혈액응고시간 단축, 자궁수축력 증강, 방광의 흥분, 혈압의 강하, 결석용해 작용 또는 항균작용이 알려져 있으며, 한의약학에서는 양혈 (涼血), 지혈 (止血), 활혈거어 (活血祛瘀), 암종 등에 응용된다고 알려져 있다(생약학, 생약학교재편찬위원회, 동명사, 서울, 2000. 천초근 참조). 그 성분으로는 푸르푸린(purpurin), 알리자린(alizarin), 슈도푸르푸린(pseudopurpurin), 문지스틴(munjistin) 등의 성분들이 알려져 있다(정보섭, 신민교, 향약대사전, 영림사, p929-930 1998 참조). 테주카(Tezuka) 등(Tezuka et al., J. Ethnopharmacology, 77, 209-217, 2001)은 시험관내 실험에서 다양한 생약이 NO 유리를 억제한다고 보고하고 있다. 한편 미국특허 제 5,821,237 호 (1998.10.13 공개) 및 제 5,709,847호 (1998.1.20 공개) 등에는 천초근 추출물이 항염증 효과가 있다고 보고되어 있으며, 또한 미국특허 제 5,700,451호(1997.12.23 공개)호에는 천초근 추출물을 이용한 자외선 차단제 등이 예시되어 있다. 미국특허 제 6,139,854호 (2000.10.31 공개) 등에는 천초근 추출물의 항산화 활성이 예시되어 있는데, 이러한 모든 발명들은 주로 천초근 추출물의 항염증 활성을 이용한 피부 질환 예방효과에 관한 것일 뿐이다.

- [9] 그러나, 아직까지 천초근의 폐암 억제 효과에 대해서는 알려진 바가 없다.

[10]

- [11] 이에, 본 발명자들은 천초근에 대한 생약 연구를 하던 중, 천초근 추출물이 폐암 세포를 효과적으로 사멸시킬 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [12] 본 발명의 목적은 천초근 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 치료용 조성물 및 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [13] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 천초근을 유기용매로 추출한 유효성분을 포함하는 폐암 예방 및 치료용 조성물을 제공한다. 상기 유기용매는 에탄올인 것이 바람직하다.
- [14] 또한, 본 발명은 화장품학적으로 허용 가능한 화장품 보조 첨가제를 포함하는 천초근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 예방용 화장료 조성물을 제공한다.
- [15]
- [16] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [17] 본 발명은 천초근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 예방 및 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 활성성분으로서 천초근 추출물을 포함하며, 추가적으로 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함할 수 있다.
- [18] 본 발명의 폐암 예방 및 치료용 조성물에 있어서, 상기 에탄올 추출물은 50°C에서 24시간 동안 추출되는 것이 바람직하고, 이때 상기 에탄올 추출물은 45°C 감압 조건에서 건조 및 농축되는 것이 보다 바람직하며, 상기 에탄올은 95%인 것이 가장 바람직하다.
- [19] 또한, 본 발명의 폐암 예방 및 치료용 조성물에 있어서, 상기 폐암은 비소세포 폐암인 것이 바람직하고, 이때 상기 비소세포 폐암은 선암(adenocarcinoma), 편평상피세포암(squamous cell carcinoma) 및 대세포암(large cell carcinoma)으로 이루어진 군중에서 선택된 암종에 의하여 유발되는 것이 보다 바람직하다.
- [20]
- [21] 본 발명에서, 사용된 용어 "폐암(lung cancer)"은 폐에 발생하는 악성 종양을 의미하며, 소세포 폐암과 선암, 편평상피세포암, 대세포 폐암 등의 비소세포 폐암을 모두 포함하는 의미이다.
- [22] 상기 "약제학적으로 허용가능한 담체"는 신체의 한 기관 또는 부분으로부터 신체의 다른 기관 또는 부분으로 활성 성분을 수송하는 역할을 하는 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제 또는 용매와 같은 약제학적으로 허용되는 물질, 조성물 또는 운반체(vehicle)를 의미한다.
- [23] 본 발명의 폐암 치료용 조성물은 유효성분과 함께 추가로 약제학적으로 허용되는 1종 이상의 담체를 첨가하여 약제로 제조할 수 있다. 상기 담체로는 식염수, 완충 식염수, 물, 글리세롤 및 에탄올 등이 있으나 이에 한정되지 않으며, 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제(Remington's Pharmaceutical

Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA)를 모두 사용 가능하다.

- [24] 본 발명의 천초근 추출물을 약제화하기 위한 제제는 임상 투여시에 경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있으며, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드, 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

- [25] 또한, 본 발명의 조성물에 추가될 수 있는 생약재는 약학적으로 허용되는 임의의 생약재일 수 있으며, 예를 들면, 고본(Angelicae tenuissimae Radix), 천마(Gastrodiae Rhizoma), 시호(Bupleuri Radix), 당귀(Angelicae gigantis Radix), 도인(Persicae Semen), 계지(Cinnamomi Ramulus), 대황(Rhei Rhizoma), 감초(Glycyrrhizae Radix), 천궁(Cnidii Rhizoma), 진피(Aurantii nobilis Pericarpium), 택사(Alismatis Rhizoma), 황련(Coptidis Rhizoma), 황금(Scutellariae Radix), 복령(Hoelen), 작약(Paeoniae Radix), 백출(Atractylodis Rhizoma alba), 황백(Phellodendri Cortex), 치자(Gardeniae Fructus), 반하(Pinelliae Tuber), 조구동(Uncaria Ramulus et Uncus), 지실(Ponciri Fructus), 인삼(Gingseng), 맥문동(Liriodopsis Tuber), 원지(Polygalae Radix), 석창포(Acori graminei Rhizoma), 창출(Atractylodis Rhizoma alba), 감국(Chrysanthemi Flos), 방풍(Ledebouriellae Radix), 생강(Zingiberis Rhizoma crudus), 망초(Natrii sulfas), 대조(Zizyphi Fructus), 단삼(Salviae Radix), 목단피(Moutan Radicis Cortex), 지황(Rehmanniae Radix), 박하(Menthae Herba), 산약(Dioscoreae Rhizoma), 저령(Polyporus), 하수오(Polygonum multiflori Radix), 구자(Allii tuberosi Semen), 결명자(Cassiae Semen), 구기자(Lycii Fructus), 독활(Araliae cordatae Radix), 두충(Eucommiae Cortex), 백화사설초(Hedyotis Herba), 삼백초(Saururus Herba), 인진(Artemisia capillaris Herba), 지모(Anemarrhenae Rhizoma), 홍화(Carthami Flos), 황기(Astragali Radix), 석송자(Lycopodium), 은행잎(Ginkgonis Folium), 황정(Polygonati Rhizoma), 연자육(Nelumbinis Semen), 용골(Fossilia ossis Mastodi), 지골피(Lycii radicis Cortex), 우슬(Achyranthis Radix), 숙지황(Rehmanniae Radix preparata), 흑임자(Perillae Semen), 백자인(Thujae Semen), 맥아(Hordei Fructus germinatus), 토사자(Cuscutae Semen), 파극천(Morindae Radix), 해송(Pini koraiensis Radix) 등을 단독으로 또는 배합하여 사용할 수 있다.

[26]

- [27] 본 발명의 조성물은 실제 임상 투여시에 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드, 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제

감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 구체적으로, 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다. 또한 치료제의 효능 증진을 위해 칼슘이나 비타민 D₃를 첨가할 수 있다. 이러한 조성물은 단위-용량(1회분) 또는 다중-용량(수 회분) 용기, 예를 들면, 밀봉된 앰플 및 바이알에 제시될 수 있고, 사용 직전에 멸균성 액상 담체, 예를 들면, 주사용 수의 부가만을 요구하는 동결-건조 조건 하에 저장할 수 있다. 즉석의 주사 용제 및 현탁제는 멸균성 산제, 과립제 및 정제로부터 제조할 수 있다.

- [28] 본 발명의 제제는 대상의 연령, 성별, 상태, 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성을 및 배설속도, 병용되는 약물에 따라 달리 적용될 수 있다. 본 발명은 또한 투약 단위의 제형들을 포함한다. 제형은 개별 투약 형태, 예를 들면 정제, 피복 정제, 캡슐제, 환제, 좌약 및 앰플제로 존재하고, 약제 중 유효 화합물의 함량은 개별 투약량의 분율 또는 배수에 해당한다. 투약 단위는, 예를 들면 개별 투여량의 1, 2, 3 또는 4배로, 또는 1/2, 1/3 또는 1/4배를 함유할 수 있다. 개별 투여량은 바람직하기로는 유효 화합물이 1회에 투여되는 양을 함유하며, 이는 통상 1일 투여량의 전부, 1/2, 1/3 또는 1/4배에 해당한다.

[29]

- [30] 본 발명에서 용어, "추출물(extract)"은 천연물로부터 분리된 활성성분을 의미한다. 추출물은 물, 유기용매, 또는 이의 혼합용매를 이용하는 추출과정으로 획득할 수 있으며, 추출액, 이의 건조 분말 또는 이를 이용하여 제형화된 모든 형태를 포함한다.

[31]

- [32] 본 발명의 구체적인 실시에서, 천초근의 에탄올 추출물은 A549 비소세포성 폐암 세포를 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 96.6% 사멸시키고, EC₅₀(half maximal effective concentration)은 18.9 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 상기 결과는 본 발명의 천초근 추출물이 우수한 A549 비소세포성 폐암 세포의 사멸 활성을 가지며, 나아가 폐암 치료 및 예방 활성을 가진다는 것을 입증하는 것이다.

[33]

- [34] 본 발명에서 용어, "예방"이란 조성물의 투여로 폐암 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

- [35] 본 발명에서 용어, "치료"란 조성물의 투여로 폐암의 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

- [36] 본 발명에서 천초근 추출물은 물, 유기 용매, 또는 이의 혼합 용매를 사용하여 추출하여 사용할 수 있다. 바람직하게는 유기 용매, 특히 에탄올을 사용하여

추출한다. 추출한 액은 바로 사용하거나 또는 농축 및/또는 건조하여 사용할 수 있다. 유기용매를 사용하여 추출하는 경우, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 부탄올, 에틸렌, 아세톤, 헥산, 에테르, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 디클로로메탄, N, N-디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO), 1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 또는 이들의 혼합용매인 유기용매를 사용하며 생약의 유효 성분이 파괴되지 않거나 최소화된 조건에서 실온 또는 가온하여 추출할 수 있다. 추출하는 유기용매에 따라 약제의 유효성분의 추출정도와 손실정도가 차이가 날 수 있으므로, 알맞은 유기용매를 선택하여 사용하도록 한다. 추출 방법은 특별히 제한되지 않고, 예를 들어 냉침 추출, 초음파 추출, 환류 냉각 추출 등이 있다. 여과는 추출액으로부터 부유하는 고체 입자를 제거하는 과정으로, 면, 나일론 등을 이용하여 입자를 걸러내거나 한외여과, 냉동여과법, 원심분리법 등을 사용할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[37] 추출액의 농축에는 감압농축, 역삼투압 농축 등의 방법이 사용될 수 있다. 농축 후 건조 단계는 동결건조, 진공건조, 열풍건조, 분무건조, 감압건조, 포말건조, 고주파건조, 적외선건조 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 경우에 따라, 최종 건조된 추출물을 분쇄하는 공정을 추가할 수 있다.

[38] 또한, 상기 추출물은 추가의 분획 공정을 수행할 수 있다. 바람직하게는 상기 추출물을 증류수에 현탁시켜 비극성 유기 용매, 예를 들어, 헥산, 에테르, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸아세테이트 또는 이들의 혼합 용매로 비극성용매 가용층을 추출, 분리하여 수득하도록 하고, 이를 농축 및/또는 건조하여 사용할 수 있다.

[39] 본 발명에서, 용어 "약제학적으로 허용가능한 염"이란 약리학적 또는 생리학적으로 허용되는 무기산, 유기산 및 염기로부터 유도된 염을 의미한다. 적합산 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-설포산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설포산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설포산, 벤젠설포산 등을 포함할 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 알칼리 금속, 예를 들어, 나트륨, 알칼리토금속, 예를 들어, 마그네슘, 암모늄 등을 포함할 수 있다.

[40]

[41] 본 발명의 폐암 질환 예방 및 치료용 약학조성물은 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물 또는 화합물을 0.1 내지 50 중량%로 포함한다. 또한, 상기 조성물은 약효를 증가시키지는 않으나 약제 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가성분을 포함할 수 있다. 또한, 상기 조성물은 비타민 B1, B2, B6, C, E, 니아신, 카르니친, 베타인, 엽산 판토텐산, 비오틴, 아연, 철, 칼슘, 크롬, 마그네슘, 이들의 혼합물 등의 무기, 유기 첨가물들을 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 조성물은 단독 사용하거나 기존 사용되어진 폐암에 대한 치료 활성을 가지는 물질을 포함할 수 있다.

[42]

[43] 본 발명에서 용어, "환자"는 폐암 및 이의 직, 간접적 원인에 의해 유발된 질환을 가지고, 본 발명의 조성물을 투여에 의하여 증상이 호전될 수 있는 인간과 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양, 개 등의 동물을 의미한다. 본 발명의 천초근 추출물을 포함하는 조성물을 환자에게 투여함으로써, 상기에서 언급한 폐암을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다. 본 발명의 조성물을 기존의 폐암 치료제와 병행하여 투여할 수 있다.

[44] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 어떠한 일반적인 경로를 통하여 경구 또는 비경구 투여될 수 있다. 또한, 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[45] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 용어, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 환자의 성별, 연령, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명의 제조 방법에 따라 제조된 추출물 또는 화합물을 포함하는 조성물의 투여방법은 경구투여 또는 정맥투여가 바람직하고, 일반적으로 그 유효 용량은 경구투여인 경우에는 보통 성인을 기준으로 1회에 1 내지 500 mg/kg이 바람직하며, 정맥투여인 경우에는 1 내지 100 mg/kg이 바람직하며, 하루 2-3 회 투여될 수 있다. 특정 환자에 대한 투여용량 수준은 성별, 연령, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 약제혼합, 환자의 상태 및 신경 질환의 발병 정도에 따라 변화될 수 있다.

[46]

[47] 또한, 본 발명은 화장품학적으로 허용 가능한 화장품 보조 첨가제를 포함하는 천초근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 예방용 화장료 조성물을 제공한다.

[48] 본 발명의 화장료 조성물은 에탄올 추출물을 총중량에 대해 0.01 내지 10중량% 포함하는 것이 바람직하며, 0.1~1중량%로 포함하는 것이 더욱 바람직하다. 본 발명의 화장료 조성물은 그 제형에 있어서 특별히 한정되는 바는 없으며, 예를 들어 유연화장수, 영양화장수, 마사지크림, 영양크림, 팩, 젤 또는 피부 점착타입의 화장료 제형을 가질 수 있으며, 또한 로션, 연고, 젤, 크림, 패취 또는 분무제와 같은 경피투여형의 제형일 수 있다.

[49]

[50] 본 발명에서는 A549 비소세포성 폐암 세포에 본 발명의 천초근 추출물을 투입한 결과, A549 비소세포성 폐암 세포가 사멸하는 것을 확인하였다(도 1 참조). 따라서, 천초근 추출물이 폐암 치료 효과가 있다는 것을 새롭게 알 수 있다. 이에, 본 발명에서는 천초근 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 예방용 화장품 조성물을 제조함으로써 본 발명을 완성하였다(제조에 2 참조).

발명의 효과

[51] 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 천초근 추출물은 폐암 세포의 성장을 억제하고 세포사멸을 유도한다. 따라서 본 발명에 따른 폐암 치료용 조성물은 폐암 환자의 치료에 매우 효과적일 것이다.

도면의 간단한 설명

[52] 도 1은 인간 폐암 세포인 A549 비소세포성 폐암 세포에서 천초근의 도입이 폐암 세포의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위한 Alamar Blue 분석 결과이고, 이때 X축은 천초근 추출물의 농도이고, Y축은 생존한 인간 폐암 세포의 생존율을 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[53] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의거하여 보다 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명은 하기 실시예에 의해 한정되는 것이 아니고, 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 치환 및 균등한 타 실시예로 변경할 수 있음은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 명백할 것이다.

[54]

[55] <실시예 1> 천초근 추출물의 제조

[56] 서울 약재상에서 구입한 천초근(중국산) 3 kg을 음지 및 실온에서 5일간 건조하고 분쇄하였다. 상기 분쇄된 천초근을 95% 에탄올(ethanol) 30 l에 침지시키고 50°C에서 24시간 동안 추출하였다. 이것을 여과지를 통하여 여과한 후 45°C 감압 조건에서 건조 및 농축하여 총 추출물 491 g을 수득하고, -20°C에서 보관하였다.

[57]

[58] <실시예 2> 천초근 추출물이 폐암 세포의 성장에 미치는 영향

[59] 상기 실시예 1에서 추출한 천초근 추출물이 폐암 세포의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 인간 폐암 세포인 A549 비소세포성 폐암 세포에 천초근의 에탄올 추출물을 48시간 처리하고 Alamar Blue 분석을 시행하였다. Alamar Blue 분석은 MTT 분석의 변형된 형태인데, 특정 효소에 의해서 분해되는 화합물을 살아있는 세포에 처리한 후 화합물이 분해되면서 나오는 생성물의 형광 세기를 측정함으로써 약물을 처리한 후 살아있는 세포의 상대적인 숫자를 알아내는 실험방법이다. 하기에서 보다 상세히 설명한다.

[60]

[61] <2-1> 인간 폐암 세포주의 준비 및 처리

[62] 본 발명에 사용된 폐암 세포주인 A549 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB)으로부터 분양받아 실험에 이용하였다. 구체적으로, A549 폐암 세포를 10% FBS(fetal bovine serum, 소태아혈청)(Welgene)와 25 mM HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)를 포함하는 RPMI 1640 배지(Robwell Park Memorial Institute에 의하여 연구 개발된 부유배양용 배지)에서 계대배양하였다.

[63]

[64] <2-2> A549 비소세포성 세포의 세포 성장 억제 측정

[65] 상기 실시예 1에서 추출한 천초근 추출물이 폐암 세포인 A549 비소세포성 세포 성장 억제효과를 확인하였다. 구체적으로, 96 웰 플레이트에 각 웰 당 1.4×10^3 개의 A549 폐암 세포를 주입(seeding)하고 24시간 동안 배양한 후, DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 녹인 상기 천초근에탄올 추출물을 각각 0 내지 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도(구체적으로, 각각 0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도)로 48시간 동안 처리하였을 때, 세포 성장을 저해하는 정도를 확인하였다(표 1). 각 농도의 추출물을 처리한 후, 96-웰 플레이트에서 각 웰에 채워진 0.2 ml의 세포 배양액에 20 μl 의 Alamar Blue 시약을 첨가한 후 플레이트를 인큐베이터에서 2시간 동안 배양하였다. 각 웰의 세포를 고르게 반응시키기 위하여 플레이트를 천천히 흔들고, 544 nm의 파장에서 조사광을 조사하면서 590 nm에서 형광의 세기를 형광광도계(Fluorescence Microplate Reader; Molecular Devices Corp.)로 측정하였고, 폐암 세포의 생존율을 도 1에 나타내었다.

[66]

[67] 표 1

[Table 1]

천초근 농도	폐암 세포 생존율 (평균)	표준편차
0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1.000	0.000
3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.910	0.056
6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.784	0.017
12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.659	0.065
25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.509	0.037
50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.075	0.010
100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.034	0.010

[68]

그 결과, 표 1 및 도 1에서 나타난 바와 같이, 천초근의 처리 농도가 높을수록 폐암 세포의 성장이 감소하였으며, 이로부터 천초근이 폐암 치료 효과를 가짐을

알 수 있었다. 즉, 3.125 $\mu\text{g/ml}$ 에서 9.0%, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 21.6%, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 에서 34.1%, 25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 49.1%, 50 $\mu\text{g/ml}$ 에서 92.5%, 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 96.6%로 폐암 세포를 사멸시켰다. 아울러, EC_{50} (half maximal effective concentration)은 18.9 $\mu\text{g/ml}$ 로 측정되었다. 상기 표 1에서 천초근을 처리하지 않은 대조군의 폐암 세포의 생존율 수를 1을 기준으로 하여 각각의 천초근 처리 농도에 따른 48시간 후의 폐암 세포의 상대적 세포수를 기재하였다. 이와 같이, 본 발명의 천초근 추출물은 우수한 A549 비소세포성 폐암 세포 사멸 활성을 가지며, 나아가 폐암 치료 및 예방 활성을 가진다는 것을 입증한다.

[69]

[70] <실시예 3> 천초근 추출물에 의한 급성독성 시험

[71] 본 발명에 이용된 천초근은 널리 약제로 이용되고 있어서 안정성에 문제가 없을 것으로 판단하였으나, 경구 투여시 및 복강내 투여시의 독성 실험을 수행하여 이를 확인하고자 하였다.

[72] 6주령의 특정병원부재(SPF) SD계 랫트를 사용하여 급성독성실험을 실시하였다. 군당 2 마리씩의 동물에 본 발명의 실시예 1의 천초근 추출물을 각각 0.5% 메틸셀룰로즈 용액에 현탁하여 5 g/kg의 용량으로 단회 경구투여하였다. 시험물질 투여후 동물의 폐사여부, 임상증상, 체중변화를 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 복강장기와 흉강장기의 이상여부를 관찰하였다.

[73] 시험결과, 시험물질을 투여한 모든 동물에서 특기할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사, 부검소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과 천초근 추출물은 모두 랫트에서 5 g/kg까지 독성변화를 나타내지 않으며 경구 투여 최소치사량 (LD_{50})은 5 g/kg이상인 안전한 물질로 판단되었다.

[74]

[75] <제조예 1> 천초근 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 치료제의 제조

[76] 본 발명자들은 상기 실시예를 통해 천초근 추출물의 폐암 치료 효능이 뛰어난을 확인하여 상기 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 치료제를 하기와 같이 제조하였다. 또한, 하기 치료제의 제조에는 치료제 뿐만 아니라 화장료 조성물의 제조에도 응용하여 사용될 수 있다.

[77]

[78] <1-1> 천초근 추출물을 함유하는 연질캡셀(soft gelatin capsules)(중량%)

[79] 천초근 추출물 20%, 비타민 C 4.5%, 비타민 D_3 0.001%, 황산망간 0.1%, 밀납 10%, 팜유 25%, 홍화씨유 30.399%

[80]

[81] <1-2> 천초근 추출물을 함유하는 정맥주사용 제제의 제조(중량%)

[82] 천초근 추출물 0.2%, 만니톨 0.3%, 생리식염수 9.5%

[83]

[84] <1-3> 천초근 추출물을 함유하는 정제(tablet)(중량%)

[85] 천초근 추출물 35%, 비타민 C 10%, 비타민 D₃ 0.001%, 황산망간 0.1%,
결정셀룰로오스 25.0%, 유당 17.999%, 스테아린산마그네슘 2%

[86]

[87] <제조예 2> 천초근 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물의 제조

[88] 본 발명자들은 상기 실시예를 통해 천초근 추출물이 폐암 치료 활성이
뛰어남을 확인하여 이를 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물을 하기와 같이
제조하였다.

[89]

[90] <2-1> 천초근 추출물을 함유하는 영양화장수(중량%)

[91] 하기 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 영양화장수를 제조하였다.

[92] 글리세린 8.0 %, 부틸렌글리콜 4.0 %, 히알루론산 추출물 5.0 %, 베타글루칸 7.0
%, 카보머 0.1 %, 천초근 추출물 0.05 %, 카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드 8.0
%, 스쿠알란 5.0 %, 세테아릴 글루코사이드 1.5 %, 소르비탄 스테아레이트 0.4 %,
세테아릴 알콜 1.0 %, 트리에탄올 아민 0.1 %, 정제수 잔량

[93]

[94] <2-2> 천초근 추출물을 함유하는 영양크림(중량%)

[95] 하기 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 영양크림을 제조하였다.

[96] 글리세린 3.0 %, 부틸렌글리콜 3.0 %, 유동파라핀 7.0 %, 베타글루칸 7.0 %,
카보머 0.1 %, 천초근 추출물 3.0 %, 카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드 3.0 %,
스쿠알란 5.0 %, 세테아릴 글루코사이드 1.5 %, 소르비탄 스테아레이트 0.4 %,
폴리솔베이트 60 1.2 %, 트리에탄올 아민 0.1 %, 정제수 잔량

[97]

[98] <2-3> 천초근 추출물을 함유하는 마사지 크림(중량%)

[99] 하기 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 마사지 크림을 제조하였다.

[100] 글리세린 8.0 %, 부틸렌글리콜 4.0 %, 유동파라핀 45.0 %, 베타글루칸 7.0 %,
카보머 0.1 %, 천초근 추출물 1.0 %, 카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드 3.0 %,
밀납 4.0 %, 세테아릴 글루코사이드 1.5 %, 세스퀴 올레인산 소르비탄 0.9 %,
바세린 3.0 %, 파라핀 1.5 %, 정제수 잔량

[101]

[102] <2-4> 천초근 추출물을 함유하는 팩(중량%)

[103] 하기 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 팩을 제조하였다.

[104] 글리세린 4.0 %, 폴리비닐알콜 15.0 %, 히알루론산 추출물 5.0 %, 베타글루칸
7.0 %, 알란토인 0.1 %, 천초근 추출물 0.5 %, 노닐 페닐에테르 0.4 %,
폴리솔베이트 60 1.2 %, 에탄올 6.0 %, 정제수 잔량

[105]

[106] <2-5> 천초근 추출물을 함유하는 피부외용제 연고(중량%)

[107] 하기 기재된 조성에 따라 통상적인 방법으로 연고를 제조하였다.

[108] 글리세린 8.0 %, 부틸렌글리콜 4.0 %, 유동파라핀 15.0 %, 베타글루칸 7.0 %, 카보머 0.1 %, 천초근 추출물 3.0 %, 스쿠알란 1.0 %, 세테아릴 글루코사이드 1.5 %, 소르비탄 스테아레이트 0.4 %, 세테아릴 알콜 1.0 %, 밀납 4.0 %, 정제수 잔량

[109]

[110] 한편, 본 발명의 구체적 범위는 상기 기술한 실시예 보다는 특허청구범위에 의하여 한정지어지며, 특허청구 범위의 의미와 범위 및 그 등가적 개념으로 도출되는 모든 변경 및 변형된 형태를 본 발명의 범위로 포함하여 해석하여야 한다.

[111]

청구범위

- [청구항 1] 천초근을 유기 용매로 추출한 유효성분을 포함하는 폐암 예방 및 치료용 조성물.
- [청구항 2] 제 1항에 있어서, 상기 유기 용매는 에탄올인 것을 특징으로하는 폐암 예방 및 치료용 조성물.
- [청구항 3] 제 2항에 있어서, 상기 에탄올로 추출한 유효성분은 50°C에서 24시간 동안 추출되는 것을 특징으로 하는 폐암 예방 및 치료용 조성물.
- [청구항 4] 제 3항에 있어서, 상기 에탄올 추출물은 45°C 감압 조건에서 건조 및 농축되는 것을 특징으로 하는 폐암 예방 및 치료용 조성물.
- [청구항 5] 제 1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 것을 특징으로 하는 폐암 예방 및 치료용 조성물.
- [청구항 6] 제 1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폐암은 비소세포 폐암인 것을 특징으로 하는 폐암 예방 및 치료용 조성물.
- [청구항 7] 제 6항에 있어서, 상기 비소세포 폐암은 선암(adenocarcinoma), 편평상피세포암(squamous cell carcinoma) 및 대세포암(large cell carcinoma)으로 이루어진 군중에서 선택된 암종에 의하여 유발되는 것을 특징으로 하는 폐암 예방 및 치료용 조성물.
- [청구항 8] 화장품학적으로 허용 가능한 화장품 보조 첨가제를 포함하는 천초근 에탄올 추출물을 유효성분으로 함유하는 폐암 예방용 화장료 조성물.

[Fig. 1]

